



Universidad
Zaragoza



Facultad de Ciencias
Universidad Zaragoza

Trabajo fin de máster en química industrial

MIGRACIÓN DE PLÁSTICOS RECICLADOS EN CONTACTO CON ALIMENTOS

Autor:

Carles Iglesias Salavera

Directores:

M. Cristina Nerín de la Puerta

Paula Vera Estacho

Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias

Curso 2020 - 2021

ÍNDICE

1. Resumen.....	1
2. Introducción.....	3
3. Objetivos.....	5
4. Materiales y métodos.....	6
4.1. Materiales.....	6
4.1.1. Reactivos.....	6
4.1.2. Muestras.....	7
4.2. Optimización del método SPME.....	7
4.2.1. Selección de los compuestos para la optimización.....	7
4.2.2. Optimización de la fibra, método de extracción (HS o inmersión) y efecto matriz	8
4.2.3. Temperatura y tiempo de extracción.....	10
4.2.4. Cromatografía de gases - espectrometría de masas.....	10
4.3. Ensayos de migración.....	11
4.3.1. Preparación de los ensayos de migración.....	11
4.3.2. Análisis de los ensayos de migración.....	12
4.4. Identificación de los compuestos migrantes.....	12
4.4.1. Cuantificación.....	13
4.4.2. Análisis de riesgo.....	13
5. Resultados.....	14
5.1. Optimización.....	14
5.1.1. Selección de los compuestos para la optimización.....	14
5.1.2. Tipo de fibra, método de extracción y efecto matriz.....	14
5.1.3. Temperatura y tiempo de extracción.....	16
5.2. Identificación de las sustancias migrantes.....	17
5.3. Cuantificación de las sustancias migrantes.....	19
6. Conclusiones.....	23
7. Bibliografía.....	24
8. Anexos.....	25

1. RESUMEN

En la actualidad existe una gran preocupación por la acumulación de plásticos en la naturaleza, es por eso que en los últimos años, Europa centra sus esfuerzos en establecer una economía circular, que consiste en la reducción tanto la entrada de los materiales vírgenes como la producción de desechos.

A día de hoy, las poliolefinas todavía no se han reciclado con éxito para uso alimentario debido a su alta capacidad de absorción de compuestos orgánicos y su elevado potencial de difusión química de los compuestos en sus matrices. El único plástico reciclado que existe en la actualidad utilizado como material de contacto con alimentos es un poliéster, el tereftalato de polietileno (PET).

En este estudio, se evaluó la migración de dos envases novedosos de polietileno de alta densidad reciclado post-consumo utilizados en los envases de leche. En este ensayo de migración se identificaron y cuantificaron los compuestos volátiles que migraban de dichos envases al simulante alimentario y al alimento real. Para ello se diseñó y optimizó un método de análisis mediante microextracción en fase sólida con cromatografía de gases y espectrometría de masas (SPME-GC-MS).

Los resultados mostraron que migraron unos 50 compuestos al simulante mientras que en el alimento real migraron únicamente 7 compuestos. De todos los compuestos que migraron al simulante, se encontraban aditivos comunes como antioxidantes, plastificantes, lubricantes, compuestos pertenecientes a tintas y absorbedores de radiación ultravioleta. También se detectaron varios NIAS como el 2,6-di-tert-butilbenzoquinona, 2,4-di-tert-butilfenol y 7,9-di-tert-butil-1-oxaspiro (4,5) deca-6,9-dieno-2,8-diona, productos de degradación del BHT.

Las muestras presentaron unos valores de migración para los compuestos 1-dodeceno, (E)- cinamaldehído, cinamaldehído 5 pentil, 1,3,4,6,7,8-hexahidro-4,6,6,7,8,8-hexametil ciclopenta[g]-2-benzopiran, 7-acetil-6-etil-1,1,4,4-tetrametiltetralina y 2-fenilmetileno octanal que estaban por encima de valores legislados o los recomendados por Cramer tras la migración a etanol 50%, por tanto, se puede afirmar que estas muestras no eran apropiadas para el uso como envase alimentario.

ABSTRACT

There is currently a great concern about the accumulation of plastics in nature, and then, Europe is focusing its efforts on establishing a circular economy, which consists of reducing both the input of virgin materials and the production of waste.

Nowadays, polyolefins have not yet been successfully recycled due to their high potential for both absorption and chemical diffusion of organic substances throughout their polymeric matrix. The only recycled plastic currently used as a food contact material is polyethylene terephthalate (PET), a polyester.

In this study, the migration of two novel post-consumer recycled high-density polyethylene containers used to package milk was evaluated. The volatile compounds that migrated from these containers into the food simulant and into the real food were identified and quantified. For this purpose, a method of analysis using solid phase microextraction with gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS) was designed and optimized.

The results showed that about 50 compounds migrated into the simulant while only 7 compounds migrated into the real food. Among all the compounds that migrated into the simulant, common additives such as antioxidants, plasticisers, lubricants, slip agents, compounds from printing inks and UV absorbers were found. Several NIAS such as 2,6-di-tert-butylbenzoquinone, 2,4-di-tert-butylphenol and 7,9-di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione, BHT degradation products, were also found.

The samples provided migration values for 1-dodecene, (E)- cinnamaldehyde, 5-pentyl cinnamaldehyde, 1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethyl cyclopenta[g]-2-benzopyran, 7-acetyl-6-ethyl-1,1,4,4-tetramethyltetralin and 2-phenylmethylene octanal compounds above the values established by both the legislation or those recommended by Cramer after migration to 50% ethanol. Therefore, both samples could not be used as food packaging.

2. INTRODUCCIÓN

Hoy en día hay una gran preocupación por la acumulación de plásticos en la naturaleza. Este problema está relacionado principalmente con dos causas; el gran consumo de estos materiales, así como su característica de no biodegradabilidad.

Por esta razón, en los últimos años, Europa se está centrando en una economía circular, cobrando gran importancia en la elaboración de nuevas políticas relacionadas con los sectores de producción de materiales plásticos, consumo y residuos de todo el mundo. Este concepto, promueve el cierre de los bucles en los sistemas industriales, la minimización de los residuos y la reducción de los consumos de materias primas y energía.

La producción global de plásticos en Europa fue de 61,8 millones de toneladas en 2019, donde un 39,6 % de esta demanda, fue destinada a materiales para envase alimentario por sus características óptimas en ratios de coste/beneficio, buena procesabilidad y ligereza. Los plásticos están fabricados de monómeros y otras sustancias de partida que, mediante una reacción química, dan lugar a una estructura macromolecular, conocida como polímero, que es el principal componente estructural de dichos materiales. Al polímero se le pueden añadir diferentes aditivos para mejorar sus propiedades como elasticidad, durabilidad, resistencia...¹

De los diferentes tipos de materiales plásticos para envase alimentario, nos podemos encontrar con el tereftalato de polietileno (PET), polipropileno (PP), polietileno (PE), poliestireno (PS) y policloruro de vinilo (PVC), o multicapas de plástico que son combinaciones de varios tipos de capas de plástico y otros materiales.²

Un 49,2% de la producción total de plástico para envasado de alimentos se destina a poliolefinas; polipropileno (PP) y polietileno de alta / baja densidad (HDPE y LDPE). Sus características como gran versatilidad en sus usos, barreras a la humedad, resistencia térmica y a la rotura hacen que sea un material muy utilizado para envase alimentario. Por tanto, es un residuo no biodegradable muy común y en consecuencia un punto clave para esta economía circular.

A día de hoy, las poliolefinas todavía no se han reciclado con éxito para su posterior uso como material para contacto con alimentos debido a su alto potencial de difusión química de los compuestos de sus matrices. El único plástico reciclado y utilizado como material de contacto con alimentos es el PET. En comparación con las poliolefinas, este tiene una difusión más lenta, una menor capacidad de absorción química y un menor potencial de migración.³

El reciclaje de envases alimentarios para convertirlos en nuevos envases alimentarios presenta retos particulares, especialmente en lo que respecta a las cuestiones de seguridad. El uso de envases alimentarios reciclados no sólo aumenta las posibles fuentes de contaminación, sino también el número y los niveles de sustancias químicas que pueden migrar del envase a los alimentos, afectando así potencialmente a la salud humana.

Se define como migración, a un proceso de transferencia de compuestos químicos de los materiales de envasado a los alimentos. Los compuestos que pueden migrar son aditivos, como plastificantes, antioxidantes, estabilizadores de luz, estabilizadores térmicos, lubricantes, agentes antiestáticos, aditivos antideslizantes... También nos podemos encontrar con sustancias no añadidas intencionadamente (NIAS), que son impurezas de los aditivos o productos de reacción y descomposición de estos aditivos.⁴

Estos NIAS son claves, ya que pueden alcanzar niveles más altos en los envases alimentarios reciclados, porque:

- Los materiales destinados al reciclaje pueden contener contaminantes intrínsecos como colorantes, aditivos y sus productos de degradación.
- El material puede degradarse durante el uso y/o el reciclaje.
- Las sustancias químicas pueden acumularse cuando los materiales se reciclan varias veces.
- El uso previo y/o el mal uso del envase pueden contribuir a la presencia de contaminantes no deseados y/o inesperados.
- Los materiales no alimentarios pueden entrar en el flujo de reciclaje.

Dado que los NIAS pueden tener diferentes estructuras químicas y suelen estar en niveles de concentración muy bajos, su detección e identificación es una tarea muy compleja.

Para los NIAS volátiles, la técnica más utilizada es el análisis por cromatografía de gases acoplado a masas (GC-MS). La existencia de amplias bibliotecas de espectros de masas como la de Wiley o la del NIST hace posible la identificación de la mayoría de los NIAS volátiles detectados. También se pueden utilizar algunos pasos de preconcentración como la microextracción en fase sólida para aumentar la sensibilidad del método (véase anexo I).⁵

Para garantizar la seguridad, tanto los materiales vírgenes como los reciclados, deben de cumplir la Regulación Europea 1935/2004 sobre buenas prácticas de fabricación y la Regulación Europea 10/2011/EU, donde aparecen los límites de migración de las sustancias, así como las condiciones de los ensayos de migración; temperatura de ensayo y tiempo de contacto, y los simulantes recomendados.¹

3. OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo era el estudio de migración de dos envases de HDPE reciclado post-consumo, utilizados para botellas de leche. Un material novedoso ya que no existe en el mercado material de HDPE reciclado post consumo para envase alimentario.

Este ensayo de migración consistirá en identificar y cuantificar los compuestos volátiles que migran de dichos envases al simulante alimentario y al alimento real, seleccionando diferentes productos lácteos y derivados (leche entera, leche de avena y horchata).

Para desarrollar dicho trabajo, se va a dividir en diferentes secciones:

- Diseñar y optimizar un método de análisis mediante microextracción en fase sólida (SPME) con cromatografía de gases espectrometría de masas (GC-MS) para el análisis de migración con productos de lácteos. Un método a desarrollar ya que es también novedoso el análisis con estos alimentos reales.
- Realización de los ensayos de migración tanto para el simulante etanol 50% (como marca el Reglamento 10/2011) como para los diferentes productos lácteos.
- Identificación de los compuestos volátiles que migran y comparar los perfiles de migración tanto para el simulante como para los alimentos.

- Cuantificación de estos compuestos migrantes
- Estudio del riesgo asociado a las sustancias que migran

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. MATERIALES

4.1.1. REACTIVOS

Los reactivos utilizados para la optimización del método fueron los siguientes:

alfa-terpineno (CAS: 99-86-5), naftaleno (CAS: 91-20-3), 1-dodeceno (CAS: 112-41-4), 1-clorododecano (CAS: 112-52-7), 1-metilnaftaleno (CAS: 90-12-0), 1-tetradeceno (CAS: 1120-36-1), difenil éter (CAS: 101-84-8), 2,6-bis(2-metil-2-propanil)-1,4-benzoquinona (CAS: 719-22-2), butilhidroxitolueno (CAS: 128-37-0), 2,4-di-tert-butilfenol (CAS: 96-76-4), dietil ftalato (CAS: 84-66-2), dodecanoato de etilo (CAS: 106-33-2), diisobutil ftalato (CAS: 84-69-5), 7,9-di-terc-butyl-1-oxaspiro [4,5]deca-6,9-dieno-2,8-diona (CAS: 82304-66-3) y octocrileno (CAS: 6197-30-4).

Los reactivos utilizados para la cuantificación de la migración fueron:

Cinamaldehído (CAS:104-55-2), ciclohexilmetacrilato (CAS:101-43-9), 1-hexadecanol (CAS:36653-82-4), benzofenona (CAS:119-61-9), 1-hexadeceno (CAS:629-73-2), 1-fenil-2-butanona (CAS:50-33-9), 2-etilhexil salicilato (CAS:118-60-5), miristato de isopropilo (CAS:110-27-0), dibutilftalato (CAS:84-74-2), palmitato de isopropilo (CAS:142-91-6) y adipato bis(2-etilhexil) (CAS:103-23-1).

Todos ellos de ultra alta calidad analítica y obtenidos en Sigma-Aldrich Química S.A (Madrid, España).

El etanol y el agua de grado HPLC fueron suministrados por Scharlau Chemie S.A (Sentmenat, Spain).

4.1.2. MUESTRAS

Las muestras a analizar (Figura 1) son las cápsulas de un material reciclado de HDPE con el que posteriormente se dará forma al envase final.



Figura 1: Muestras del material reciclado a analizar

4.2. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO SPME

Con el fin de optimizar el método de extracción por SPME de los compuestos que migraban a la leche, se estudiaron las siguientes variables críticas: tipo de fibra, tipo de extracción (head-space o inmersión), la temperatura y tiempo de extracción (véase Anexo I). También se estudió el efecto de la dilución (1/5 o 1/10), al ser el ensayo con alimento real que consiste en una matriz compleja.

4.2.1. SELECCIÓN DE LOS COMPUESTOS PARA LA OPTIMIZACIÓN.

Se seleccionaron diferentes sustancias encontradas en bibliografía relacionadas con este tipo de material de PE ⁶ para llevar a cabo la optimización del método.

Para ello, se prepararon las disoluciones madres en etanol a partir de los reactivos puros. Posteriormente, se preparó también una disolución conjunta con todos los compuestos con una concentración aproximada de 10ppm que sería la disolución madre de partida. Esta disolución se utilizaría para dopar la leche con estos compuestos para los distintos experimentos.

4.2.2. OPTIMIZACIÓN DE LA FIBRA, MÉTODO DE EXTRACCIÓN (HS O INMERSIÓN) Y EFECTO MATRIZ.

Según las características de los compuestos seleccionados para la optimización, se eligieron las fibras PDMS (100 μm) y DVB/CAR/PDMS (50/30 μm) para comprobar con cuál de ellas se obtenía una mayor extracción de los compuestos.

La fibra de PDMS (100 μm) es adecuada para compuestos no polares con alto poder de extracción y la fibra DVB/CAR/PDMS (50/30 μm) es mejor para compuestos semipolares con mayor poder de absorción⁷ (véase anexo I).

También se estudió el método de extracción más adecuado para extraer los compuestos para el análisis con leche entre el método HS o inmersión de la fibra en la leche (véase anexo I).

Finalmente, se estudió el efecto matriz de la leche ya que las matrices complejas, como son los alimentos reales, pueden dar problemas en la extracción de los compuestos volátiles. Para ello se llevaron a cabo dos diluciones de las muestras de leche en agua, de 1/5 y de 1/10 para comprobar el efecto de esta variable en la extracción de los compuestos.

El diseño de la optimización de este estudio, se basó en un total de 12 experimentos, de los cuales la mitad se realizaron con la fibra PDMS (100 μm) y la otra mitad con la fibra DVB/CAR/PDMS (50/30 μm). De estos 6 experimentos con cada tipo de fibra, 2 se analizaron por el método HS, 2 por inmersión y los últimos 2 son blancos y de cada método uno se preparó con la dilución en 1/5 y el otro con 1/10 para estudiar el efecto matriz (Figura 2).

El criterio de selección de la mejor fibra, se basó en la intensidad de la señal de los picos detectados y la selección de los otros dos parámetros, se basó en la comparación de la señal con el mismo análisis pero dopando estos compuestos en agua.

Los viales para analizar en modo HS, tenían una capacidad máxima de 5 mL de leche, mientras que los viales para el método de inmersión tenían una capacidad 18 mL. Sabiendo esto, se calculó para estos dos, el volumen con el que se doparía la leche para que hubiera una concentración total de 100 ppb de los compuestos para los viales con

dilución 1/5 y 50 ppb para los viales con dilución 1/10. También se prepararon estas concentraciones de los compuestos en agua para calcular sus recuperaciones.

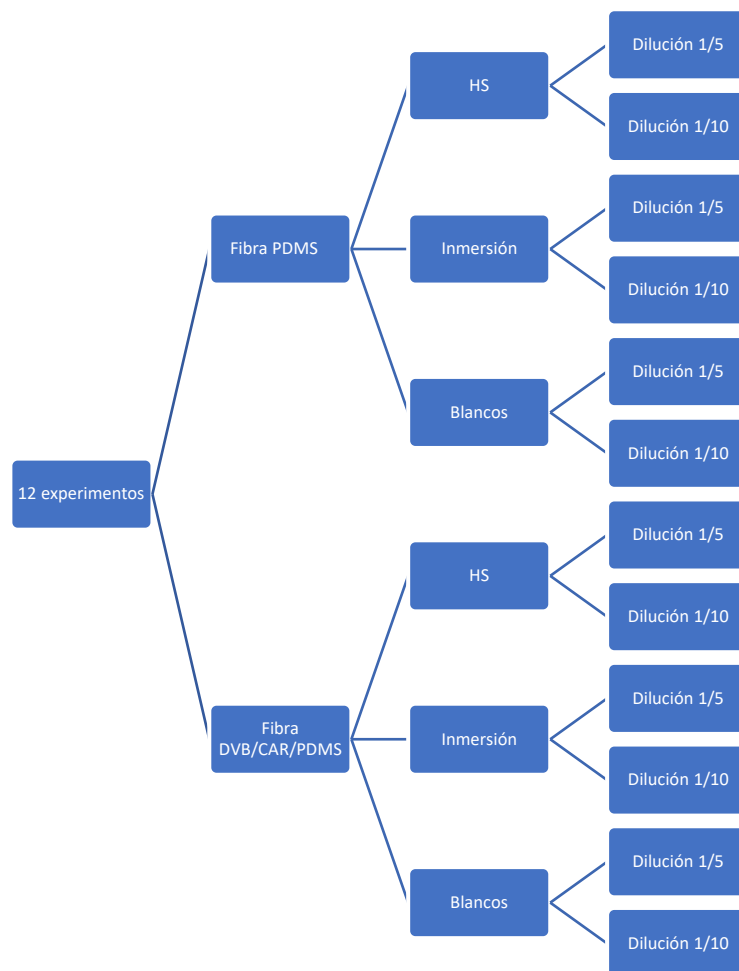


Figura 2: Diseño experimental de la optimización del método.

Para preparar los viales que se analizaron por HS (capacidad 5mL) con dilución 1/5, se añadió 1 g de leche, se dopó con 50 µl y se rellenó hasta los 5 g con agua. Para la dilución 1/10, se añadieron 0,5 g de leche, se dopó con los 25 µl y se rellenó hasta los 5 g con agua.

Análogamente, para los viales que se analizaron por inmersión (capacidad 18mL) y dilución 1/5 se añadieron 3,6 g de leche, se dopó con 180 µl y se rellenó hasta los 18 g con agua. Para la dilución 1/10 se añadieron 1,8 g de leche, se dopó con 90 µl y se llegó hasta los 18 g con agua.

Para hacer los diferentes blancos se hizo el mismo proceso, pero sin dopar la leche con la disolución de 10 ppm.

Una vez se tuvieron preparadas todas las muestras a analizar, se procedió a inyectarlas en el GC-MS y a cuantificar las áreas de los compuestos, donde una mayor área representa una mayor extracción del compuesto.

4.2.3 TEMPERATURA Y TIEMPO DE EXTRACCIÓN

Por otro lado, se utilizó un diseño experimental para la optimización de las mejores condiciones de parámetros de temperatura y tiempo de extracción. Se llevó a cabo mediante la metodología de superficie de respuesta (RSM) con el software MODDE v6.0 (Umetrics AB). Se diseñaron 11 experimentos para cada compuesto en los que se estudió la temperatura de 50 a 80°C y el tiempo de extracción de 15 a 40 min (véase anexo II).

Para ello, 0,5 gramos de leche se diluyeron 10 veces con agua y se les añadió 25 µl de solución estándar y se colocaron en viales de 20mL y se analizaron por HS-SPME-GC-MS con la fibra DVD/CAR/PDMS.

4.2.4. CROMATOGRAFÍA DE GASES - ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Para todos estos experimentos se realizó la separación cromatográfica en un cromatógrafo de gases 7820A de Agilent Technologies acoplado a un detector de masas en serie (5977B MSN) de Agilent Technologies (Madrid, España). Se utilizó la columna capilar HP-5MS (30 m × 0,25 µm × 250 µm) de Agilent Technologies (Madrid, España). El tipo de inyección fue splitless y el flujo de helio fue de 1,0 mL/min. La temperatura del inyector fue de 250 °C. La adquisición se realizó en ionización por impacto de electrones (EI).

Para el ensayo de optimización el programa de temperatura del horno fue de 80°C (5 min), una rampa de temperatura de 10°C/min a 120°C, 2°C/min a 130°C, 10°C/min a 170°C, 2°C/min a 180°C, 10°C/min a la temperatura final de 300°C (35 min de análisis).

La adquisición se llevó a cabo en el modo *SIM*, para ello se compararon las masas obtenidas en modo *SCAN* con las masas de la librería espectral, relacionando cada pico con cada uno de los compuestos añadidos y su tiempo de retención.

4.3 ENSAYOS DE MIGRACIÓN

4.3.1. PREPARACIÓN DE LOS ENSAYOS DE MIGRACIÓN

Según el Reglamento (UE) N°10/2011 de la Comisión de 14 de enero de 2011 sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con los alimentos, los alimentos constituyen estructuras complejas, por lo que el análisis de las sustancias que migran a estos puede plantear dificultades. Por ello, han de determinarse medios de ensayo que simulen la transferencia de sustancias del material plástico a los alimentos. Estos medios deben representar las principales propiedades fisicoquímicas que muestran los alimentos. Al usar simulantes alimentarios, las condiciones normalizadas de duración y temperatura de ensayo deben reproducir, en la medida de lo posible, la migración que puede producirse desde el objeto al alimento representando las peores condiciones posibles de uso.

En este caso, al tratarse de envases para bebidas lácteas, el simulante a utilizar fue el etanol al 50% (v/v). En cuanto al tiempo y temperatura de contacto para los ensayos, fueron de 10 días a 40°C, cubriendo todos los períodos de almacenamiento prolongado superiores a seis meses, a temperatura ambiente o inferior.

A las dos muestras de recipiente plástico reciclado se le añadieron 20 ml del simulante haciéndolo por triplicado (1Kg de simulante por cada 6dm² de muestra, como dicta dicha norma). Análogamente, también se preparó un blanco para cada tipo de muestra, añadiendo en un vial los 20 ml de simulante sin contacto con el plástico. Seguidamente, tanto los recipientes plásticos como los viales se cerraron herméticamente y se introdujeron en el horno a 40°C durante 10 días.

Se hizo el mismo procedimiento para los diferentes tipos de leche y derivados, pero en vez de introducirlos en el horno se introdujeron en la nevera para una mejor conservación. Trascurrido el tiempo de ensayo de migración, se traspasaron los diferentes volúmenes de muestra a viales de vidrio y se procedió al análisis de las muestras por HS-SPME-GC-MS previamente optimizado.

4.3.2. ANÁLISIS DE LOS ENSAYOS DE MIGRACIÓN

Para las muestras de migración con el simulante etanol 50%, se hizo una dilución 1/5 (el máximo porcentaje de disolvente orgánico para análisis con SPME es del 10%).

Para las muestras de migración con los diferentes productos lácteos, se analizaron 5mL de producto lácteo diluido 1/10 según el método optimizado anteriormente.

El método final de extracción optimizado fueron 5 mL de simulante o producto lácteo, extracción por HS-SPME con fibra de DVD/CAR/PDMS y temperatura y tiempo de extracción de 80°C y 40 minutos respectivamente.

Para llevar a cabo la separación cromatográfica se utilizó el mismo equipo y condiciones que en el apartado 4.2.4. La excepción fue el programa de temperatura del horno utilizado para los ensayos de migración, que fue de 50°C (5 min), una rampa de temperatura de 10°C/min hasta 300°C mantenida durante 5 min. La adquisición se realizó en modo SCAN (50-450 m/z) para el análisis de migración, de identificación y cuantificación.

4.4. IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS MIGRANTES

La búsqueda de compuestos migrantes de estas muestras se realizó comparando los cromatogramas (migración de cada muestra y de cada alimento frente a sus respectivos blancos). La identificación se realizó utilizando las bibliotecas de espectros de masas del NIST y del WILEY, así como el uso de una búsqueda bibliográfica; comparando sus fragmentos y sus índices KI (kovat) con las mismas descripciones encontradas en la literatura para compuestos procedentes de materiales poliolefínicos utilizados en el envasado de alimentos.

Finalmente, para confirmar la identificación, se inyectaron los estándares encontrados bajo las mismas condiciones cromatográficas (HS-SPME-GC-MS), comparando sus tiempos de retención y espectros de masas.

4.4.1 CUANTIFICACIÓN

Una vez identificados todos los compuestos se llevó a cabo la cuantificación. En esta etapa, para cada cromatograma de las dos muestras con sus réplicas, se calcularon las áreas de todos los picos de compuestos migrantes.

Después, para cada compuesto, se preparó una batería de disoluciones para hacer una recta de calibrado de 0,1 ppb a 25 ppb ($\mu\text{g/Kg}$). Para los compuestos que no se disponía de sus reactivos comerciales, se buscaron uno de estructura parecida.

De cada disolución madre se preparó una disolución intermedia de 100 ppb. A partir de esta solución intermedia se calculó el peso que hay que añadir al vial para hacer los diferentes puntos de la recta patrón. Las rectas de calibrado fueron preparadas en etanol 10% y en leche diluida 5 veces. Se inyectaron en el HS-SPME-GC-MS según las condiciones optimizadas anteriormente.

Finalmente, a partir de cada área calculada previamente y extrapolando en las rectas, se obtuvo la concentración de cada compuesto en la muestra, calculando la concentración promedio y su desviación estándar.

4.4.2 ANALISIS DE RIESGO

En segundo lugar, se compararon estos valores de migrantes con sus respectivos límites de migración específicos (LME) encontrados en la lista positiva del Reglamento 10/2011. Para los compuestos que no estaban legislados, Cramer propone una ingesta máxima diaria en humanos que depende de la toxicidad teórica de los compuestos basada en su estructura química. El software Toxtree®, basado en el TTC, (véase anexo III), clasifica los compuestos en tres categorías dependiendo de su estructura: Clase I, baja toxicidad, clase II media toxicidad y clase III alta toxicidad cuyas máximas ingestas corresponden a 1800, 540 y 90 $\mu\text{g/Kg}$ para las clases I, II y III respectivamente.

5 RESULTADOS

5.1 OPTIMIZACIÓN

5.1.1. SELECCIÓN DE LOS COMPUESTOS PARA LA OPTIMIZACIÓN

Se seleccionaron diferentes sustancias encontradas en bibliografía⁶ relacionadas con este tipo de materiales de PE, los compuestos están mostrados en la Tabla 1. En dicha tabla se muestran los compuestos, con sus tiempos de retención y sus masas seleccionadas para el método *SIM*.

Tabla 1: Compuestos seleccionados para la optimización de la SPME con sus números CAS, tiempos de retención y masas.

Compuestos	CAS	Rt	Masas
α -terpineno	99-86-5	6,7	93,1/136,1/77
Naftaleno	91-20-3	9,45	128,1
1-dodeceno	112-41-4	9,6	55,1/69,1/83,1
1-clorododecano	112-52-7	11,3	91,1/55,1/69
1-metilnaftaleno	90-12-0	12,6	142/115
1-tetradeceno	1120-36-1	14,85	55,1/69,1/83,1
Difenil éter	101-84-8	15,15	170,1/141,1
2,6-bis(2-metil-2-propanil)-1,4-benzoquinona	719-22-2	16,5	177,2/220,2/205,2
Butilhidroxitolueno	128-37-0	17,32	205,2/191,2/220,2
2,4-di-tert-butilfenol	96-76-4	17,41	191,2/206,2
Dietil ftalato	84-66-2	18,85	149/177,1
Etil dodecanoato	106-33-2	18,91	88/101
Diisobutil ftalato	84-69-5	24,59	149/223
7,9-di-terc-butil-1-oxaspiro [4,5]deca-6,9-dieno-2,8-diona	82304-66-3	24,4	205,2/217,2/175,1
Octocrileno	6197-30-4	33	204,1/249,1/232

5.1.2 TIPO DE FIBRA, MÉTODO DE EXTRACCIÓN Y EFECTO MATRIZ

Los resultados de la comparación entre los diferentes tipos de fibras, método de extracción y el efecto matriz se muestran en la tabla 2.

Tabla 2: Resultados de la optimización expresados como la relación de las áreas entre las diferentes fibras, HS o inmersión y dilución 1/5 o 1/10 de las muestras.

Compuestos	Áreas Fibra DVD/CAR/PDMS /Fibra PDMS		Recuperación % HS/ Inmersión y dilución 1/5-1/10			
	HS	Inmersión	HS y dil1/5	HS y dil1/10	Inmersión y dil 1/5	Inmersión y dil 1/10
alfa-terpineno	0.59	0.61	64.22	64.20	78.10	98.34
Naftaleno	21.73	21.56	81.55	98.93	97.57	95.77
1-dodeceno	1.84	1.36	88.57	98.81	44.42	0.21
1-clorododecano	17.10	16.70	50.71	99.90	68.19	76.62
1-metilnaftaleno	1.76	2.37	63.93	93.36	57.31	94.93
1-tetradeceno	8.14	6.08	65.55	99.92	64.63	99.03
Difenil éter	3.02	2.17	49.41	86.16	43.81	99.95
2,6-bis(2-metil-2-propanil)-1,4-benzoquinona	0.98	1.09	71.04	70.52	52.79	95.64
Butilhidroxitolueno	0.04	2.29	99.99	26.29	74.55	16.52
2,4-di-tert-butilfenol	6.86	8.85	37.29	98.24	96.93	99.78
Dietil ftalato	1.60	1.52	45.37	94.87	31.82	46.93
Etil dodecanoato	2.03	2.29	21.01	99.87	42.84	68.86
Diisobutil ftalato	1.95	3.51	14.71	54.56	81.57	98.84
7,9-di-terc-butil-1-oxaspiro [4,5]deca-6,9-dieno-2,8-diona	0.56	0.97	0.00	6.09	41.20	98.71
Octocrileno	0.59	0.61	64.22	64.20	78.10	98.34

Para seleccionar la fibra más adecuada, se calcularon todas las áreas de los compuestos obtenidas por ambas fibras y se dividieron sus valores. Se observó que se obtuvieron áreas mayores en la mayoría de los compuestos para la fibra DVD/CAR/PDMS que para la fibra PDMS. Por tanto, al dividir el área de la fibra DVD/CAR/PDMS respecto a la fibra PDMS, se obtenían unos factores mayores que 1 que son los valores de las 2 primeras columnas de la Tabla 2. Esto se cumplía para la mayoría de los compuestos y para los dos

métodos de extracción. Por tanto, la fibra seleccionada para continuar con el análisis fue la fibra DVD/CAR/PDMS. Todos los análisis se efectuaron por duplicado para confirmar.

Para comparar el efecto matriz, se compararon las áreas obtenidas según dilución de la leche para todos los compuestos respecto a las obtenidas cuando se analizaban dichos compuestos en agua. Entre la dilución 1/5 y la 1/10, se observó que el porcentaje de recuperación en la dilución 1/10 era más grande para la mayoría de los compuestos.

Finalmente, entre los dos métodos de extracción (HS o inmersión) y con una dilución 1/10, se observó que para ambos métodos de extracción se obtenían porcentajes de recuperación altos, haciendo que ambos métodos fuesen válidos para la extracción de estos compuestos en leche. Pero se decidió elegir el método de head-space (HS) ya que se mantenía la fibra en mejores condiciones.

5.1.3 TEMPERATURA Y TIEMPO DE EXTRACCIÓN

Tras el diseño experimental con el software MODDE v6.0 (Umetrics AB), se obtuvo la superficie de respuesta que representa las áreas de los compuestos en función de la temperatura y el tiempo de extracción.

Como se muestra en la siguiente figura, las áreas máximas para la mayoría de compuestos se obtuvieron para una temperatura de 80°C y 40 minutos de extracción, punto rojo de la gráfica (Figura 3).

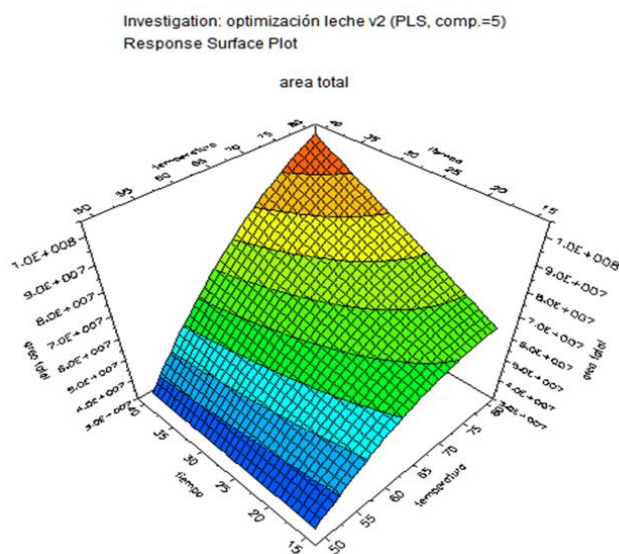


Figura 3: Gráfico de respuesta de superficie de la suma de todos los compuestos expresado en área con respecto al tiempo y la temperatura de extracción.

Compuestos como el 2,4-di-tert-butilfenol, 1-clorododecano, 1-tetradeceno o el α -terpineno tuvieron otros puntos óptimos de extracción (véase anexo IV).

5.2 IDENTIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS MIGRANTES

Tal y como vemos en uno de los cromatogramas de la muestra 1 de plástico tras la migración al simulante etanol 50% (Figura 4), se observaba un cromatograma muy complejo donde aparecían muchos picos que correspondían a la migración de aproximadamente unos 50 compuestos de la muestra al simulante etanol 50%.

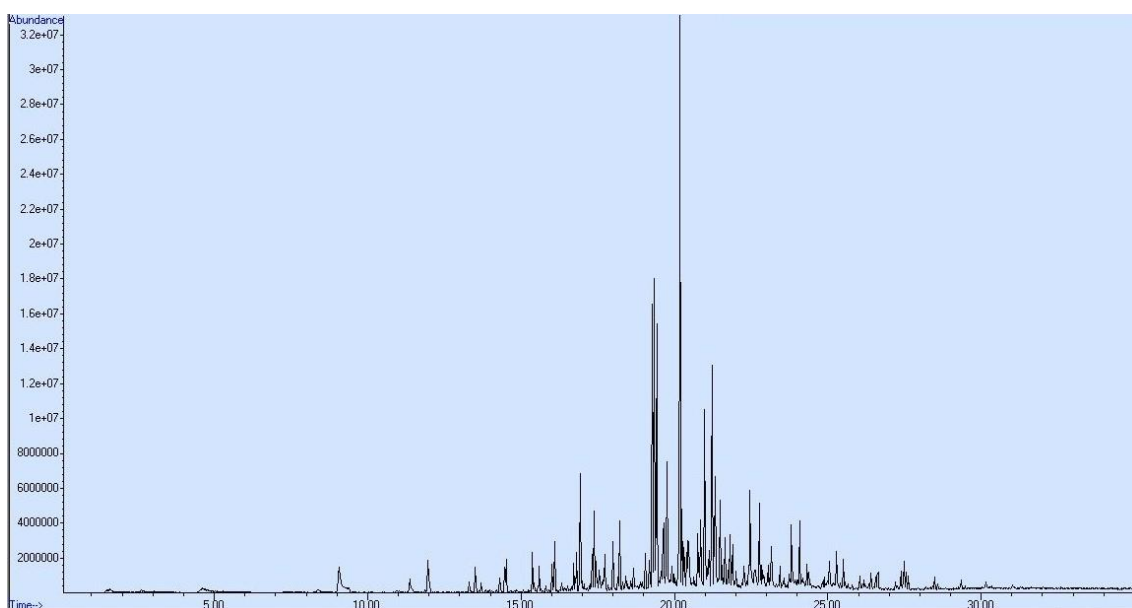


Figura 4: Cromatograma de la muestra 1 migración a etanol 50%

Para los diferentes tipos de productos lácteos se detectaron únicamente 7 picos diferentes del blanco y por tanto 7 compuestos migrantes.

Seguidamente, cada pico se identificó mediante la librería de espectros. La Tabla 3 muestra los compuestos identificados en la migración, con su porcentaje de similitud proporcionada por la librería, sus números CAS y sus fragmentos de masa. Los compuestos sin porcentaje de similitud se corroboraron analizando su patrón correspondiente.

Tabla 3: Compuestos identificados después de los estudios de migración con sus tiempos de retención (Rt), sus probabilidades, sus CAS y sus masas (m/z) más abundantes.

Nº	Rt	Prob	Compuesto	CAS	Masas (m/z)
1	14,32	64,2	(E)- cinamaldehído	14371-10-9	131; 103; 78
2	14,87	54	1-[4-(1-metiletil) fenil] etanona	645-13-6	147; 91; 162,1
3	15,1	78,55	Acetato de 4-tert-butilciclohexil	32210-23-4	57,2; 97,1; 83,1
4	16,1		Difenil éter	101-84-8	170,1; 141,1; 115,1
5	16,66	56,2	1-(4-tert-butilfenil) propan-2-ona	81561-77-5	147,1; 175,2; 190,1
6	16,79	72	2-metoxinaftaleno	93-04-9	115; 158
7	16,82		2,6-di-tert-butilbenzoquinona	719-22-2	177; 220,2
8	16,98		1-dodeceno		55,1; 69,1; 83,1; 97,1
9	17,34		Butilhidroxitolueno	128-37-0	205,1; 220,2
10	17,41		2,4-di-tert-butilfenol	96-76-4	191,1; 206,2
11	17,51	64,9	1-(2,6,6-trimetil-2-ciclohexen-1-il)-1-penten-3-ona	7779-30-8	121,1; 93,1; 135,1
12	17,58	65,5	Indano-1,3-diol monopropionato		66; 138; 117
13	17,68		Ni (familia de los alcoholes)	14852-31-4	57,2; 97,1; 83,1
14	17,71	62,7	2-etoxinaftaleno	93-18-5	144,1; 115; 172,1
15	17,75	53,6	Salicilato de pentilo	2050-08-0	120; 138; 208,1
		52,3	Isoamil salicilato	87-20-7	
16	18,18		1-tetradeceno		83,1; 69,1; 55,1; 97,1
17	18,24	48,7	Salicilato de pentilo	2050-08-0	120; 138; 208,1
		25,1	2-metilbutil salicilato	51115-63-0	
		18,7	Isoamil salicilato	87-20-7	
18	18,34		Dodecanoato de etilo	106-33-2	88; 101,1; 71,1
19	18,45		Ni (familia de los alcoholes)		57,2; 97,1; 83,1
20	18,5		Ni (familia de los alcoholes)		57,2; 97,1; 83,1
21	18,6		Ni (familia de los alcoholes)		57,2; 97,1; 83,1
22	18,96		Benzofenona	119-61-9	182,1; 105; 77,1; 51,1
23	19,08	80	Cinamaldehído α -pentil	122-40-7	115,1; 129; 202,1; 91
24	19,2		Ni		191,2; 119,1; 91,1
25	19,3		Ni		191,2; 119,1; 91,1;
26	19,38		1-hexadeceno		83,1; 97,1; 69,1
27	19,46	79,5	n-hexil salicilato	6259-76-3	120; 138; 222,1
28	19,67		Ni		191,2; 135,1;
29	19,81		Ni (familia de los alcoholes)		57,2; 97,1; 83,1
30	20,03		Ni (familia de los alcoholes)		57,2; 97,1; 83,1
31	20,22	96,6	2-fenilmetileno octanal	101-86-0	129,1; 115,1; 216,1; 91,1
32	20,27	49,2	Trans-1,2-difenilciclobutano	20071-09-4	104,1; 78
33	20,45	70,4	2-fenilmetileno octanal	101-86-0	129,1; 115,1; 91,1
34	20,5	75,2	1-(2,3,4,7,8,8a-hexahidro-3,6,8,8-tetrametil-1H-3a,7-metanoazulen-5-il) etanona	68039-35-0	161,1; 231,1; 105,1
35	20,78		2-etilhexil salicilato	118-60-5	120; 138; 250,1
36	20,88		Isopropil miristato	110-27-0	228,2; 211,1

37	21,25	75	1,3,4,6,7,8-hexahidro-4,6,6,7,8,8-hexametil ciclopenta[g]-2-benzopiran	1222-05-5	243,2; 258,1; 213,2;
		22,9	7-acetil-6-etil-1,1,4,4-tetrametiltetralina	88-29-9	
38	21,31	67,7	7-acetil-6-etil-1,1,4,4-tetrametiltetralina	88-29-9	243,1; 258,1; 187,1
39	21,52		1-octadeceno	112-88-9	83,1; 97,1; 69,1
40	21,56		Ni		91,1; 228,1; 243,1; 65
41	21,62	62,7	7-acetil-6-etil-1,1,4,4-tetrametiltetralina	88-29-9	243,2; 258,1; 213,1
42	21,66	69,5	Homosalato	118-56-9	138; 120; 109,1; 355
43	21,77	55,2	7-acetil-6-etil-1,1,4,4-tetrametiltetralina	88-29-9	243,1; 258,1; 213,1
44	21,83		7,9-di-tert-butil-1-oxaspiro (4,5) deca-6,9-dieno-2,8-diona	82304-66-3	205; 281,1; 217,1; 175,1
45	55,72		2-(tetradeciloxi) etanol		57,2; 97,1; 83,1
46	22,03		3-metil (3,5-ditertbutil-4-hidroxifenil) propanoato	6386-38-5	277,1; 292,1; 147
47	22,29		Dibutilftalato	84-74-2	149; 57; 71,1
48	22,8	50,7	Isopropil palmitato	142-91-6	256,1; 239,1; 102,1
49	22,89		Ni (familia de los alcoholes)		57,2; 97,1; 83,1
50	26,06		Adipato bis(2-etilhexil)	103-23-1	129; 147; 112; 57,1
51	26,65		Ni (compuesto sulfúrico)		91;129.1;194,1; 207,1
52	27,39		Ni (compuesto sulfúrico)		91;129.1;194,1;281,1
53	27,49		Ni (compuesto sulfúrico)		91;129.1;194,1;

Ni: No identificado

Como se observa en dicha tabla, aparecían varios compuestos que no era posible identificar con una probabilidad >50. Catorce compuestos se confirmaron con sus patrones comerciales. Se detectó un compuesto antioxidante como el BHT, plastificantes como el adipato bis(2-etilhexil) o el dibutilftalato, lubricantes como el 2-metoxinaftaleno, compuestos pertenecientes a tintas como los salicilatos o fotoiniciadores como la benzofenona. También se detectaron varios NIAS como el 2,6-di-tert-butilbenzoquinona, 2,4-di-tert-butilfenol y 7,9-di-tert-butil-1-oxaspiro (4,5) deca-6,9-dieno-2,8-diona, productos de degradación del BHT, previamente identificados en bibliografía.

5.3. CUANTIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS MIGRANTES Y ANALISIS DE RIESGO.

Una vez identificados todos los compuestos, se prepararon rectas de calibrado de los compuestos que se disponía de patrón comercial, tanto en etanol 50% como en leche. Se

calcularon sus rectas de calibración, con sus rangos lineales y sus R^2 . También se calcularon sus límites de detección y de cuantificación (véase anexo V). Los patrones que se no disponían comercialmente, se cuantificaron con otro de estructura o familia similar.

Para calcular las concentraciones migrantes, se interpolaron las áreas de los compuestos migrantes en las correspondientes rectas de los patrones, calculando así la concentración que migra. Para cada muestra se calcula el promedio de concentración para las réplicas estudiadas junto con su incertidumbre en forma de desviación estándar (Tabla 4).

Por otro lado, se compararon los valores de migración con sus SML y la toxicidad según Cramer.

Tabla 4: Migración de las capsulas posconsumo de HDPE en etanol al 50 % (simulante) expresado cómo μg de compuesto/Kg de alimento, sus SML y sus toxicidades de Cramer

Nº	Compuesto	Cuantificado con otro estándar	Muestra de migración 1 $\mu\text{g/Kg}$	Muestra de migración 2 $\mu\text{g/Kg}$	SML $\mu\text{g/Kg}$	Toxicidad de Cramer
1	(E)- cinamaldehído	Cinamaldehído	4680±1000	3450±143		I
2	1-[4-(1-metiletil) fenil] etanona	Cinamaldehído	382±98	459±108		I
3	Acetato de 4-tert-butilciclohexil	Ciclohexilmetacrilato	50,3±2,3	121±24		II
4	Difenil éter		31,7±5,7	57,3±4,9		III
5	1-(4-tert-butilfenil) propan-2-ona	Cinamaldehído	432±67	946±142		I
6	2-metoxinaftaleno	1-metilnaftaleno	<LOQ	3,63±0,27		III
7	2,6-di-tert-butilbenzoquinona		24,2±1,1	27,1±4,1		II
8	1-dodeceno		554±57	2630±382	500	
9	Butilhidroxitolueno		12,5±1,8	25,9±2,5	3000	
10	2,4-di-tert-butilfenol		37,0±6,4	62,4±6,8		I
11	1-(2,6,6-trimetil-2-ciclohexen-1-il)-1-penten-3-ona	2,6-di-tert-butilbenzoquinona	8,09±0,44	12,5±1,4		I
12	Indano-1,3-diol monopropionato	1-hexadecanol	<LOQ	<LOQ		I
13	Ni (familia de los alcoholes)	1-hexadecanol	<LOQ	<LOQ		I
14	2-etoxinaftaleno	1-metilnaftaleno	<LOQ	1,88±0,11		III
15	Salicilato de pentilo	2-etilhexil salicilato	67,8±15,2	201±18		I
	Isoamil salicilato					I
16	1-tetradeceno		<LOQ	24,6±2,3	50	
17	Salicilato de pentilo	2-etilhexil salicilato	140±26	505±33		I
	2-metilbutil salicilato					I

	Isoamil salicilato				I
18	Dodecanoato de etilo		3,66±0,26	6,20±0,37	I
19	Ni (familia de los alcoholes)	1-hexadecanol	<LOQ	<LOQ	I
20	Ni (familia de los alcoholes)	1-hexadecanol	<LOQ	<LOQ	I
21	Ni (familia de los alcoholes)	1-hexadecanol	<LOQ	<LOQ	I
22	Benzofenona		89,6±9,5	205±13	600
23	Cinamaldehído α-pentil	Cinamaldehído	2090±110	7340±500	I
26	1-hexadeceno		56,2±8,3	219±19	I
27	n-hexil salicilato	2-etilhexil salicilato	614±96	1760±80	I
29	Ni (familia de los alcoholes)	1-hexadecanol	<LOQ	<LOQ	I
30	Ni (familia de los alcoholes)	1-hexadecanol	<LOQ	<LOQ	I
31	2-fenilmetileno octanal	1-fenil-2-butanona	231±56	706±41	II
32	Trans-1,2-difenilciclobutano	1-metilnaftaleno	4,59±0,47	9,93±0,54	III
33	2-fenilmetileno octanal	1-fenil-2-butanona	20,8±3,2	43,7±6,6	II
34	1-(2,3,4,7,8,8a-hexahidro-3,6,8,8-tetrametil-1H-3a,7-metanoazulen-5-il) etanona	1-fenil-2-butanona	18,7±1,0	28,1±1,8	III
35	2-etilhexil salicilato		59,5±9,9	127±7	I
36	Isopropil miristato		75,8±14,8	101±2	I
37	1,3,4,6,7,8-hexahidro-4,6,6,7,8,8-hexametil ciclopenta[g]-2-benzopiran	Benzofenona	2610±478	3990±336	III
38	7-acetil-6-etil-1,1,4,4-tetrametiltetralina	Benzofenona	496±44	716±47	II
39	1-octadeceno		36,4±4,2	82,1±8,3	I
41	7-acetil-6-etil-1,1,4,4-tetrametiltetralina	Benzofenona	110±11	144±6	II
42	Homosalato	Benzofenona	153±36	223±15	I
43	7-acetil-6-etil-1,1,4,4-tetrametiltetralina	Benzofenona	181±28	236±13	II
44	7,9-di-tert-butil-1-oxaspiro (4,5) deca-6,9-dieno-2,8-diona		<LOQ	<LOQ	III
45	2-(tetradeciloxi) etanol	Dodecanoato de etilo	16,8±3,7	34,7±2,1	I
46	3-metil (3,5-ditertbutil-4-hidroxifenil) propanoato		15,0±1,0	23,9±0,8	II
47	Dibutilftalato		87,3±14,6	93,1±8,0	300
48	Isopropil palmitato	Palmitato de metilo	16,6±3,2	13,2±1,6	I
49	Ni (familia de los alcoholes)	1-hexadecanol	<LOQ	<LOQ	I
50	Adipato bis(2-etilhexil)		35,6±8,7	38,9±6,2	18000

Tal y como se puede ver en la tabla anterior, para la muestra 2 la concentración de compuestos migrantes es mayor que en la muestra 1.

En lo que respecta a las toxicidades se observó que, de todos los compuestos encontrados, hay muy pocos que estén legislados con un valor de SML (límite de migración específica). De estos, sólo el 1-dodeceno no cumple la legislación al encontrarse mayor concentración migrante que la permitida.

Por otra parte, de las sustancias a las que se aplicó la toxicidad de Cramer, se encontró que la mayoría pertenecen a la categoría I. Siguiendo esta toxicidad, los compuestos 1 y 23 tuvieron mayor concentración de la recomendada para ambas muestras (Clase I, 1800 µg/kg), mientras que la migración de los compuestos 31, 37 y 38 (Clase II y III, 540 y 90 µg/kg respectivamente) fue muy superior en la muestra 2.

Para las muestras con alimento real se realizó el mismo procedimiento para cuantificar las sustancias migrantes. Los compuestos que migran junto con la cuantificación, vienen reflejados en la Tabla 5.

Tabla 5: Migración de las cápsulas posconsumo de HDPE en alimento real tal cómo leche desnatada, leche de soja y horchata expresado en ng de compuesto/g alimento.

Nº	Compuesto	Migración leche desnatada µg/kg		Migración leche soja µg/kg		Migración a horchata µg/kg	
		Muestra 1	Muestra 2	Muestra 1	Muestra 2	Muestra1	Muestra 2
4	Difenil éter	0,18±0,02	0,16±0,04	0,12±0,01	0,58±0,15	0,20±0,03	0,07±0,01
6	2-metoxinaftaleno	<2,76	<2,76	<0,78	<0,78	<0,78	<0,78
7	2,5-Ciclohexadieno-1,4-diona, 2,6-bis(1,1-dimetiletil)	0,26±0,01	<0,24	<0,24	<0,24	<0,24	<0,24
9	Butylated Hydroxytoluene	0,26±0,02	0,26±0,02	<0,22	0,24±0,02	<0,22	<0,22
10	2,4-ditertbutilfenol	<0,25	0,35±0,04	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25
18	Etil dodecanoato	<0,65	<0,65	<0,65	1,72±0,21	<0,65	<0,65
27	n-hexil salicilato	<1,18	<1,18	5,36±0,32	18,8±2,0	<1,18	<1,18

Donde se observó que en las muestras con alimentos reales además de migrar menos compuestos en comparación con la migración al simulante alimentario, sus concentraciones eran mucho más bajas y estas, estaban por debajo de sus SML o los valores recomendados por Cramer.

6. CONCLUSIONES

Se ha estudiado la migración de un material muy novedoso que consiste en HDPE reciclado post consumo para uso alimentario. Se han analizado dos muestras cuya finalidad es el envasado de leche.

Para dicho estudio de migración se han comparado los resultados de migración al simulante etanol 50 % como dicta la legislación de plásticos 10/2011 EU, con diferentes productos lácteos.

Se ha optimizado un método SPME-GC-MS para el análisis con leche, como estudio novedoso, donde se han estudiado las diferentes variables críticas como el tipo de fibra, tiempo y temperatura de extracción, así como la dilución óptima de la leche y el método de análisis (HS o inmersión). Resultando un método con gran sensibilidad, donde ha permitido detectar un gran número de compuestos migrantes, permitiendo cuantificar a muy bajas concentraciones de aproximadamente 0.1 µg/Kg.

Se han encontrado 53 compuestos migrantes para el simulante etanol 50% y 7 para los distintos tipos de leche. Se han identificado compuestos antioxidantes como el BHT, plastificantes como el adipato bis(2-etilhexil) o el dibutilftalato, lubricantes como el 2-metoxinaftaleno, compuestos pertenecientes a tintas como los salicilatos o protectores de ultravioleta como la benzofenona. También se detectaron varios NIAS como el 2,6-di-tert-butilbenzoquinona, 2,4-di-tert-butilfenol y 7,9-di-tert-butil-1-oxaspiro (4,5) deca-6,9-dieno-2,8-diona, productos de degradación del BHT, previamente identificados en bibliografía.

Además, se han calculado sus concentraciones migrantes siendo seis compuestos críticos que se encontraban por encima de sus SML o de los valores recomendados por Cramer para el simulante etanol 50%. Sin embargo, para todos los productos lácteos, las concentraciones estaban muy por debajo de dichos valores.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. La Comisión Europea. REGLAMENTO (UE) No 10/2011. *D Of la Unión Eur.* Published online 2011:89. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011R0010&from=ES>
2. Geueke B, Groh K, Muncke J. Food packaging in the circular economy: Overview of chemical safety aspects for commonly used materials.
3. Vera Estacho P. Estudio de adhesivos en envase alimentario: Desarrollo de métodos de análisis, difusión y migración de sus componentes a los alimentos envasados. 2013.
4. Begley T, Castle L, Feigenbaum A, et al. Evaluation of migration models that might be used in support of regulations for food-contact plastics. Published online 2007.
5. Nerín C, Aznar M, Carrizo D. Food contamination during food process. *Trends Food Sci Technol.* 2016;48:63-68.
6. Su QZ, Vera P, Nerín C, Lin QB, Zhong HN. Safety concerns of recycling postconsumer polyolefins for food contact uses: Regarding (semi-)volatile migrants untargetedly screened. *Resour Conserv Recycl.* 2021;167(January).
7. Kataoka H, Lord HL, Pawliszyn J. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *J Chromatogr A.* 2000;880:35-62.

8. ANEXOS

ANEXO I. MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPME)

La microextracción en fase sólida, Solid Phase Micro Extraction (SPME), consiste en un método de preconcentración de muestra previa a la cromatografía de gases. En dicho método se utiliza una fibra capaz de absorber compuestos en su matriz, para posteriormente desorberlos en una columna cromatográfica para su separación.

La fibra está formada por un capilar de sílice fundida de pequeñas dimensiones que actúa como soporte y de una fase estacionaria polimérica, ligada a la sílice.

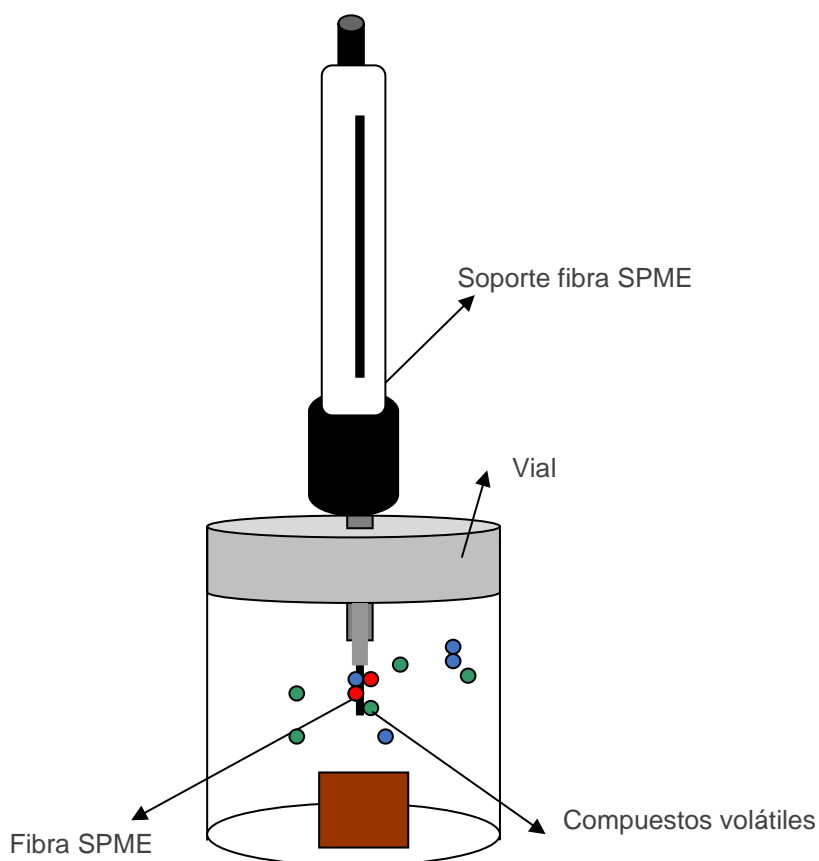


Figura 5: Microextracción en fase sólida (SPME)

Existen en el mercado varios tipos de fibras que se diferencian en el grosor y la polaridad de sus fases estacionarias.

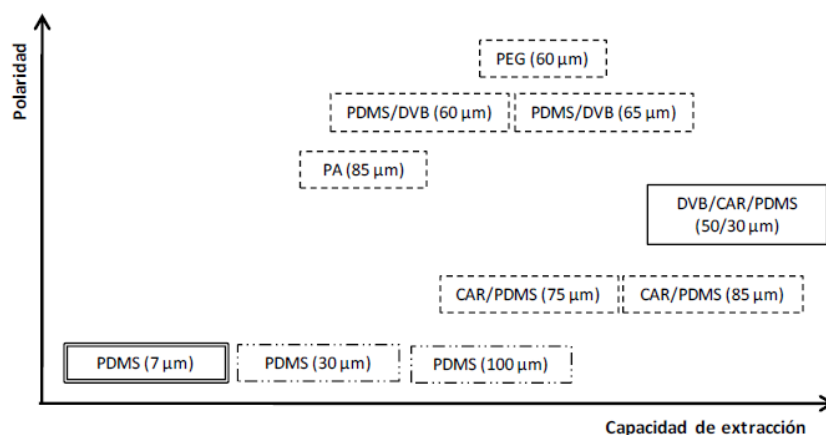


Figura 6: Propiedades de las fibras de SPME comerciales: PDMS: Polidimetilsiloxano, DVB: divinilbenceno, PEG: carbowax-polietilenglicol, PA: poliacrilato, CAR: carboxen.

Se puede trabajar de dos maneras; extrayendo compuestos volatilizados previamente en el espacio de cabeza, head space (HS) (Figura 5) o por inmersión en la muestra. En ambos casos, la muestra se calienta para favorecer el paso de compuestos volátiles a la fibra. La temperatura y el tiempo que se aplican, además del tipo de fibra. Serán las variables críticas y necesarias a optimizar.³

Las principales ventajas que aporta esta técnica son que permite trabajar con sólidos y con muestras acuosas directamente, ya que la muestra no se introduce directamente en la columna, sólo los compuestos previamente retenidos en la fibra. Y por otro lado, que se aumenta la sensibilidad del método aumentando la posibilidad de detectar compuestos como NIAS que se encuentran a bajas concentraciones.

ANEXO II. TABLA DEL DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA OPTIMIZACIÓN DE LA TEMPERATURA Y TIEMPO DE EXTRACCIÓN.

Seguidamente se muestra una tabla (Tabla 6) con cada experimento que se llevó a cabo para la optimización de la temperatura y el tiempo de extracción con cada compuesto.

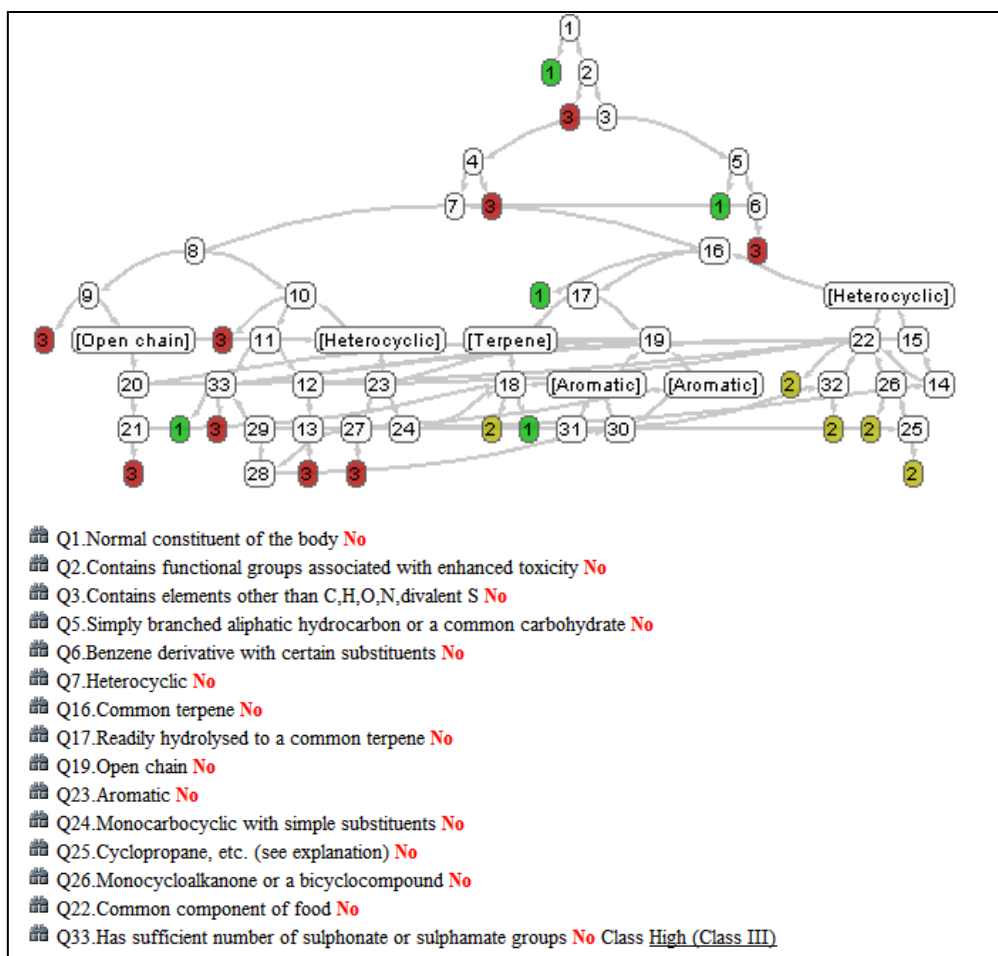
Tabla 6: Temperaturas y tiempos de extracción utilizados en el diseño experimental

	T (°C)	t (min)
Experimento 1	50	15
Experimento 2	80	15
Experimento 3	50	40
Experimento 4	80	40
Experimento 5	50	27,5
Experimento 6	80	27,5
Experimento 7	65	15
Experimento 8	65	40
Experimento 9	65	27,5
Experimento 9	65	27,5
Experimento 9	65	27,5

ANEXO III. SOFTWARE TOXTREE V1.51 (IDEACONSULT LTD.).

Para clasificar los compuestos se utiliza el software Toxtree v1.51 (Ideaconsult Ltd.). El cual utiliza un árbol de decisión en el que se formulan diferentes preguntas acerca de su estructura química. En función de la respuesta (SI o NO) el compuesto es directamente clasificado en uno de los grupos de toxicidad o es necesario responder a otra pregunta adicional. La Figura 7 muestra un ejemplo de árbol de decisión para un compuesto.

Figura 7: Árbol de decisión utilizado por el programa Toxtree para la clasificación de un compuesto



Cada círculo representa una pregunta, según la respuesta a ella, el compuesto sigue una ruta diferente. Si el círculo tiene color verde es que se ha clasificado directamente en la Clase I, si es amarillo como clase II y si es rojo como Clase III. Por ejemplo, la Pregunta 1 es si la sustancia es un constituyente normal del cuerpo, si la respuesta es SI: el compuesto es directamente clasificado de Clase I, si la respuesta es NO: pasar a la siguiente pregunta 2 que pregunta si tiene grupos funcionales que aumenten la toxicidad,

si la respuesta es SI: compuesto clasificado clase III y si es NO: pasar a la pregunta 3 y así sucesivamente. Tras la evaluación con el árbol de decisión, nos muestra la clasificación del compuesto que se busca, según su toxicidad, véase en la Figura 8, el ejemplo del compuesto fenantreno.

Toxtree (Estimation of Toxic Hazard - A Decision Tree Approach) v2.5.0

File Edit Chemical Compounds Toxic Hazard Method Help

Chemical identifier

Available structure attributes

SMILES	C1=CC=CC=C2C=CC=CC=C3C=CC=CC=C123
toxTree.tree.cramer.Cramer...	High (Class III)
toxTree.tree.cramer.Cramer...	1N, 2N, 3N, 5N, 6N, 7N, 16N, ...

Structure diagram

1

Toxic Hazard by Cramer rules

Estimate

Low (Class I)

Intermediate (Class II)

High (Class III)

☒ Verbose explanation

Cramer rules

- Q1. Normal constituent of the body **No**
- Q2. Contains functional groups associated with enhanced toxicity **No**
- Q3. Contains elements other than C, H, O, N, divalent S **No**
- Q5. Simply branched aliphatic hydrocarbon or a common carbohydrate **No**
- Q6. Benzene derivative with certain substituents **No**
- Q7. Heterocyclic **No**
- Q16. Common terpene **No**
- Q17. Readily hydrolysed to a common terpene **No**
- Q19. Open chain **No**
- Q23. Aromatic **No**
- Q24. Monocarbocyclic with simple substituents **No**
- Q25. Cyclopropane, etc. (see explanation) **No**
- Q26. Monocycloalkane or a bicyclic compound **No**
- Q22. Common component of food **No**
- Q33. Has sufficient number of sulphonate or sulphamate groups **No** Class **High (Class III)**

Figura 8: Resultado de la clasificación del compuesto fenantreno en el programa Toxtree.

ANEXO IV. SUPERFICIE RESPUESTA DE LOS DIFERENTES COMPUESTOS

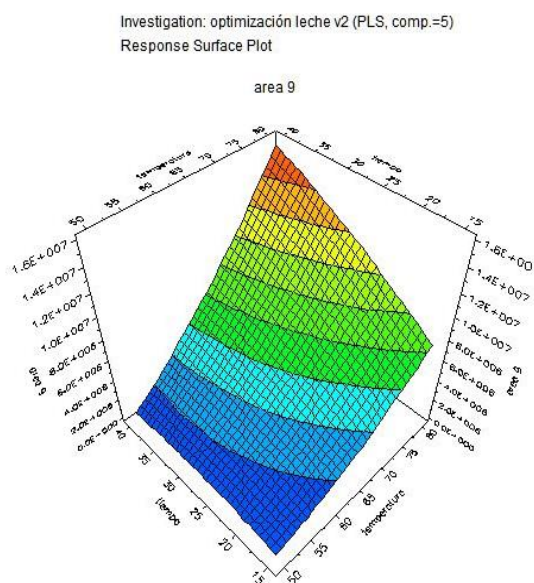


Figura 9a: Gráfico de la respuesta de superficie del 2,4-Di-tert-butilfenol

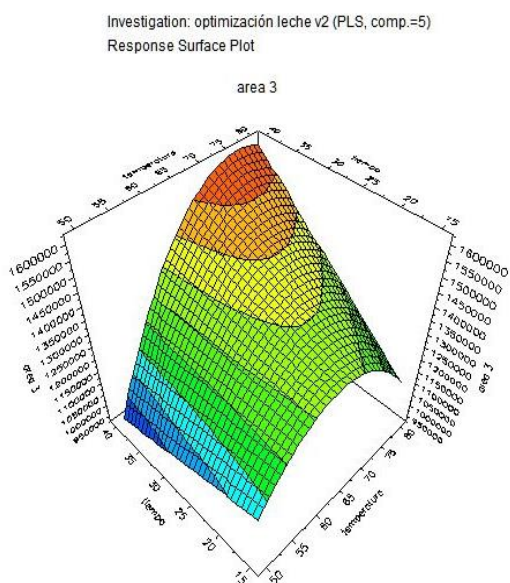


Figura 9b: Gráfico de la respuesta de superficie del 1-clorododecano

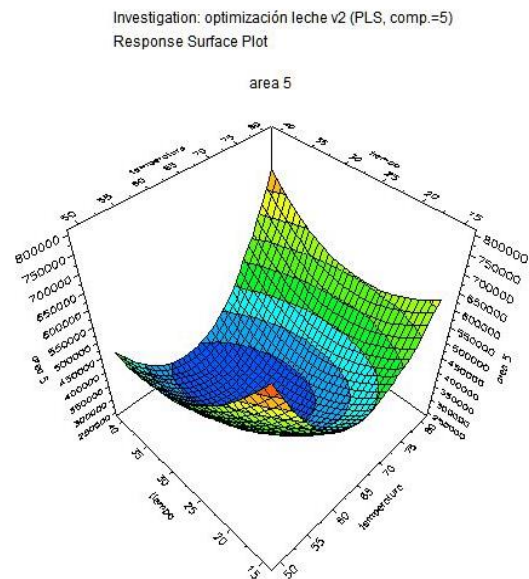


Figura 9c: Gráfico de la respuesta de superficie del 1-tetradeceno

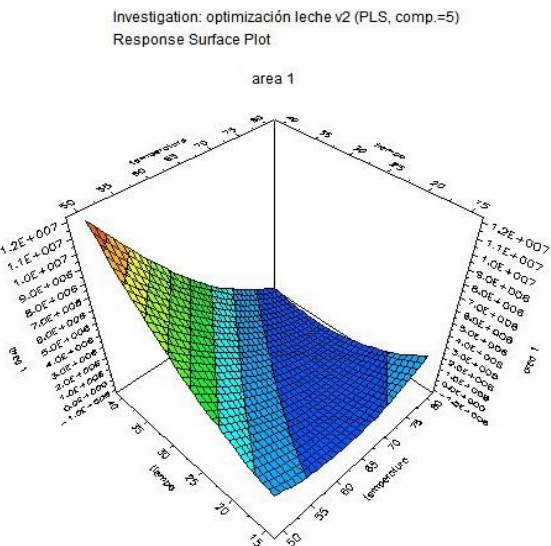


Figura 9d: Gráfico de la respuesta de superficie del α -terpineno

ANEXO V. RECTAS DE CALIBRADO Y PARÁMETROS ANALÍTICOS.

Se muestran las curvas de calibración con sus rangos lineales y sus R^2 . También se calcularon sus límites de detección y de cuantificación.

Tabla 7: Rectas de calibrado preparadas en etanol 50% con sus rangos lineales, son R^2 y sus límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ)

Compuesto	Curva de calibración	Rango lineal (ng/g)	R^2	LOD	LOQ
Cinamaldehído	$y=628x-1883$	20,4-1580	0,998	20,4	68
Ciclohexilmetacrilato	$y=2248x-3504$	1,36-120,4	0,999	1,36	4,5
Difenil éter	$y=170742x-48095$	0,09-33,9	0,994	0,09	0,3
1-metilnaftaleno	$y=2479706x+29857$	0,5-11,2	0,993	0,5	1,67
2,6-di-tert-butilbenzoquinona	$y=100018x-54039$	0,14-61,5	0,997	0,14	0,47
1-dodeceno	$y=9684x+9201$	2,67-162	0,998	2,67	8,9
Butilhidroxitolueno	$y=524367x-207064$	0,54-61,3	0,999	0,54	1,8
2,4-di-tert-butilfenol	$y=436419x-61395$	0,03-66,8	0,999	0,03	0,1
1-hexadecanol	$y=50811232x-184583$	1,25-101	0,992	1,25	4,2
1-tetradeceno	$y=96656x-46885$	1,26-26,7	0,997	1,26	4,2
Dodecanoato de etilo	$y=90465x-18562$	0,66-25,4	0,990	0,66	2,2
Benzofenona	$y=11369x-12273$	1,11-165	0,997	1,11	3,7
1-hexadeceno	$y=97438x-65730$	1,32-50,8	0,998	1,32	4,4
1-fenil-2-butanona	$y=116021-108233$	0,21-65,8	0,993	0,21	0,7
2-etilhexil salicilato	$y=63913x+60728$	2,76-125,3	0,999	2,76	9,2
Isopropil miristato	$y=61072x-84295$	0,61-70,8	0,992	0,61	2,1
1-octadeceno	$y=92521x-1532$	2,3-45,8	0,998	2,3	7,7
7,9-di-tertbutil-1-oxaspiro (4,5) deca-6,9-dieno-2,8-diona	$y=1643744x-2914$	2,51-98,2	0,992	2,51	8,4
3-metil (3,5-ditertbutil-4-hidroxifenil) propanoato	$y=123243x-77102$	1.22-22.2	0,997	1,22	4,1
Dibutilftalato	$y=39894x-165837$	0.65-122	0,994	0,65	2,2
Isopropil palmitato	$y=74383x-55489$	0.65-74.9	0,999	0,65	2,2
Adipato bis(2-etilhexil)	$y=22536x+47153$	5.13-73.5	0,998	5,13	17

Donde el **rango lineal** viene dado por el valor del límite de detección y el valor de máxima concentración de la recta.

El **límite de detección (LOD)** se calcula por la fórmula:

$$LOD = \frac{3 * hr * C_i}{hm-hb} \quad \text{donde:}$$

hr: altura de los picos del ruido

C_i : concentración de la muestra

h_m : altura del pico de la muestra

h_b : altura del blanco

Para este cálculo, hay que tener en cuenta que la diferencia de la altura del pico de la muestra y el blanco sea 3 veces la altura del ruido.

El **límite de cuantificación** se calcula por la fórmula $LOQ = \frac{10 * hr * C_i}{h_m - h_b}$